

ИММУНОРЕГУЛЯТОРНЫЕ СВОЙСТВА ТРОМБОСПОНДИНА-1, КОМПОНЕНТА ВНЕКЛЕТОЧНОГО МАТРИКСА И ИНГИБИТОРА АНГИОГЕНЕЗА

Кузнецова С.А., Крылов А.В., Киселева Е.П.

Отдел иммунологии, ГУ НИИ экспериментальной медицины РАМН, Санкт-Петербург

Резюме. Тромбоспондин-1 (TSP-1) является белком внеклеточного матрикса и способен регулировать адгезию, миграцию, пролиферацию и выживаемость различных типов клеток, включая клетки иммунной системы. Многие клетки организма секретируют TSP-1, и его экспрессия значительно выражена в местах тканевого повреждения и восстановления (репарации). Первоначально TSP-1 был охарактеризован как эндогенный ингибитор ангиогенеза. Известно, что этот фактор обладает антиангиогенными свойствами, которые заключаются в ингибировании пролиферации эндотелиальных клеток *in vitro* и роста сосудов *in vivo*. Получены многочисленные свидетельства участия TSP-1 в процессах клеточной регуляции при эмбриональном развитии, поддержании нормального гомеостаза тканей во взрослом организме, в процессе ранозаживления, иммунного ответа, а также при опухолевом росте. TSP-1 представляет собой большую тримерную молекулу матриклеточного гликопротеина, состоящую из множества структурных доменов, взаимодействующих с разнообразными рецепторами и молекулами. Многие клетки крови и их предшественники обладают способностью как продуцировать TSP-1, так и взаимодействовать с ним. В настоящем обзоре даны современные представления об участии TSP-1 в процессах дифференцировки, созревания и функционирования клеток иммунной системы.

Ключевые слова: тромбоспондин, внеклеточный матрикс, ангиогенез, воспаление.

Kuznetsova S.A., Krylov A.V., Kiseleva E.P.

IMMUNOREGULATORY PROPERTIES OF THROMBOSPONDIN-1, A EXTRACELLULAR MATRIX COMPONENT AND ANGIOGENESIS INHIBITOR

Abstract. Thrombospondin-1 (TSP-1) is an extracellular matrix glycoprotein that can positively or negatively regulate adhesion, motility, proliferation, and survival of various cell types, including cells of the immune system. It is secreted by numerous cell types, and its expression is predominant in areas of tissue injury or remodeling. Initially, TSP-1 was identified as one of the first endogenous inhibitors of angiogenesis. This factor is known to be a potent inhibitor of angiogenesis, as demonstrated by *in vitro* inhibition of endothelial cell proliferation and *in vivo* vascular growth. Since then, much has been learned about its ability to modulate cell behavior during embryonic development, to maintain normal homeostasis of adult organism, wound healing, immune response, tumor growth. TSP-1 is a large, trimeric, matricellular protein, composed of multiple structural domains that interact with a diverse array of receptors and molecules. Many hematopoietic and immune cells are able of both producing TSP-1 and responding to it. This review presents a current understanding on participation of TSP-1 in differentiation, maturation and functioning of immune cells. (*Med. Immunol.*, vol. 10, N 6, pp 499-506)

Адрес для переписки:

Кузнецова Светлана Анатольевна
197376, Санкт-Петербург, ул. Ак. Павлова, 12.
Тел.: (812) 234-16-69.
Факс: (812) 234-94-89.
E-mail: Kuznetsova4872@yahoo.co.uk

Введение

В процессе дифференцировки, созревания и активации иммунокомпетентные клетки неизбежно контактируют с рецепторами на поверхности эндотелия и компонентами внеклеточного матрикса, что вносит свой вклад в реализацию защитных функций. Основными структурными компонентами

внеклеточного матрикса являются коллагены, протеогликаны, гиалуроновая кислота, эластин, фибронектин и некоторые ламинины. Тромбоспондин-1 (TSP-1) является минорным, так называемым «матрикеточным» компонентом матрикса, который присутствует временно и появляется на определенных этапах развития или при патологических состояниях [9, 27]. TSP-1 является большим гликопротеином, состоящим из множества структурных доменов, которые взаимодействуют с широким спектром рецепторов на поверхности клеток или другими лигандами, что в свою очередь определяет многофункциональность этой молекулы [2].

Исторически TSP-1 был охарактеризован и изучен прежде всего как эндогенный ингибитор ангиогенеза. Ангиогенез — это сложный и многоэтапный процесс формирования сосудов из существующей капиллярной сети путем прогрессивной инвазии и прорастания эндотелиальных клеток. Убедительно показано, что TSP-1 ингибирует адгезию, пролиферацию и миграцию эндотелиальных клеток *in vitro*, а также ангиогенез *in vivo* [38, 43, 24, 25].

В настоящее время известно девять рецепторов TSP-1 на поверхности эндотелиальных клеток, среди них: $\alpha 3\beta 1$ -, $\alpha 4\beta 1$ -, $\alpha 6\beta 1$, $\alpha 9\beta 1$ - и $\alpha v\beta 3$ -интегрины, белок, связанный с ЛПНП-подобным рецептором (LRP) ассоциированный с кальретикулином, гепарансульфат протеогликианы, CD36 и CD47. Экспрессия и активность некоторых рецепторов TSP-1 регулируется частично на клеточном уровне, а частично — конформационными изменениями молекулы в результате взаимодействия с другими компонентами внеклеточного матрикса.

Перечисленные рецепторы не являются специфическими маркерами эндотелиальных клеток, экспрессируются клетками разных типов, и большинство из них представлено на поверхности клеток иммунной системы. Взаимодействия между этими клетками и TSP-1 во взрослом организме происходят в местах регенерации тканей при повреждении, ранозаживлении, где отмечается интенсивная экспрессия TSP-1 и развитие воспалительной реакции. Нормальная плазма крови человека содержит низкие, но значимые уровни растворимой формы TSP-1, которая является физиологическим регулятором передачи сигнала от оксида азота (NO) [25]. Кроме того, увеличенные уровни экспрессии TSP-1 в тканях являются характеристикой некоторых хронических заболеваний, таких как ревматоидный артрит, атеросклероз, диабет и другие. В настоящем обзоре приводится обобщение современных литературных данных, указывающих на важные иммунорегуляторные функции TSP-1, которые до недавнего времени оставались практически не изученными.

Строение молекулы, лиганды, рецепторы

TSP-1 является гомотримером с молекулярной массой примерно 450 kDa (рис. 1). Каждый мономер включает в себя глобулярный NH_2 -терминальный гепарин, связывающий домен, линейный участок молекулы, состоящий из проколлагенового домена и участка олигомеризации, так называемые три повтора первого типа (известные также как пропердин-домены), три повтора второго типа (EGF-подобные домены), семь повторов третьего типа (Ca-связывающие домены) и глобулярный COOH -терминальный домен. Три мономера соединены ковалентно дисульфидными связями в области олигомеризации, расположенной близко к NH_2 -терминальному домену [2, 19].

NH_2 -терминальный домен является основным высокоаффинным гепарин-связывающим участком TSP-1. Кроме того, этот домен содержит участки связывания с широким спектром макромолекул, включая гепарансульфат протеогликианы, как на поверхности клеток, так и в составе внеклеточного матрикса, интегрины, ЛПНП-рецепторподобный белок (LRP), кальретикулин, сульфогликолипиды [17].

Повторы первого типа включают участки связывания латентной формы TGF β , гликозаминогликаны, фибронектин и CD36 [19, 25]. Следует отметить, что CD36, помимо тромбоспондина, является рецептором для большого количества лигандов, включая клетки, подвергшиеся апоптозу, модифицированные формы липопротеинов низкой плотности, компоненты клеточных стенок грам-положительных бактерий, фибриллярный бета-амилоид и другие. Этот факт в комплексе с широко распространенной экспрессией CD36 на поверхности макрофагов, дендритных и эндотелиальных клеток и в тканях указывает на важную роль многофункционального рецептора, как при физиологических, так и патологических условиях [18].

Мало что известно о специфических лиганд-связывающих активностях EGF-подобного домена или повторов второго типа.

Среди повторов третьего типа находятся участки связывания ионов кальция, что влияет на структуру и функциональную активность молекулы, интегрин-связывающий мотив, участки связывания компонентов внеклеточного матрикса и протеаз. Особенное значение имеет участок связывания CD47 на поверхности клеток, который расположен в наиболее консервативной COOH -терминальной части молекулы TSP-1 [1]. CD47 экспрессируется практически всеми типами клеток и помимо TSP-1 взаимодействует

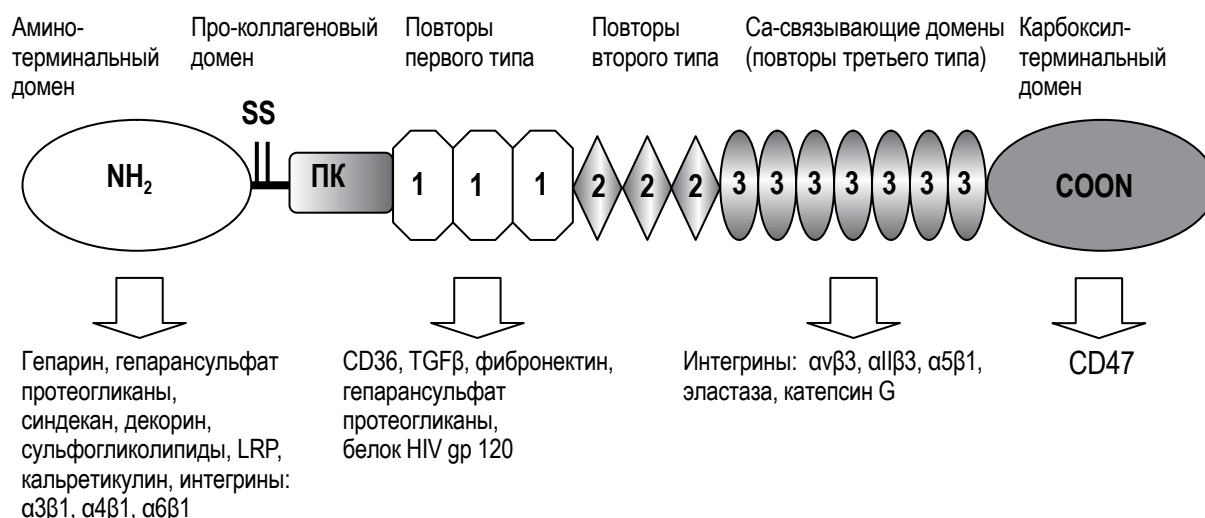


Рисунок 1. Схематическое изображение структурных и функциональных доменов субъединицы молекулы тромбоспондина-1 (TSP-1)

Примечания. TSP-1 является гомотримером, каждая субъединица которого включает в себя сигнальный пептид (аминокислоты 1-18), амино-терминальный домен (аминокислоты 19-251), участок олигомеризации (аминокислоты 252-256), про-коллагеноподобный домен (аминокислоты 275-373), три повтора первого типа (аминокислоты 379-547), три повтора второго типа (аминокислоты 549-690), семь повторов третьего типа (аминокислоты 723-950) и глобулярный карбоксил-терминальный домен (аминокислоты 951-1170). В нижней части рисунка приведены те рецепторы и лиганды TSP-1, к которым хорошо охарактеризованы сайты связывания на поверхности белка.

с белками, регулирующими проведение сигнала (Signal regulatory proteins (SIRP_s)), играя, как было показано, важную роль в процессах поддержания гомеостаза и иммунорегуляции [12].

Таким образом, сложная структура молекулы TSP-1 и наличие нескольких различных участков связывания как рецепторов на поверхности клеток, так и компонентов внеклеточного матрикса, позволяют предположить возможность одновременного взаимодействия с различными рецепторами на поверхности одной клетки, разных клеток или одновременного взаимодействия с рецептором и с внеклеточным протеином.

Продукция, синтез TSP-1

TSP-1 секретируется различными клетками, и его экспрессия ассоциирована, главным образом, с местами активного восстановления поврежденных тканей или с рядом патологических состояний. Было показано, что многие клетки синтезируют TSP-1 при культивировании *in vitro*. При этом наиболее выраженный уровень синтеза наблюдается при полуконфлюентных условиях культивирования и активно пролиферирующими клетками. Увеличенные уровни экспрессии мРНК были обнаружены в ответ на факторы роста (PDGF, bFGF, TGFβ1) и условия гипоксии и, наоборот, снижение экспрессии TSP-1 в ответ на IL-1β и TNFα [2]. Было показано, что IL-6 дозозависимо индуцирует экспрессию и синтез TSP-1 эндотелиальными клетками аорты свиньи, IFNγ очень незначительно влияет на экспрес-

сию, в то время как ФМА ингибирует экспрессию TSP-1 [26]. Длительная экспозиция эндотелиальных клеток *in vitro* в присутствии низких концентраций различных противоопухолевых препаратов вызывает значительное усиление экспрессии гена и белка TSP-1 [8].

Моноциты периферической крови человека демонстрируют быстрое и значительное увеличение уровней мРНК TSP-1 после обработки М-CSF, дексаметазоном и IFNγ. ФМА, напротив, ингибирует уровни экспрессии TSP-1 [46]. Синтез мРНК TSP-1 был индуцирован М-CSF в культурах макрофагов человека после короткой инкубации (3 часа) с последующим обнаружением белкового продукта, ассоциированного с клеточной мембраной в комплексе с неизвестным белком. GM-CSF индуцировал мРНК TSP-1 на более поздних промежутках времени. Этот эффект, как было показано, опосредован эндогенным синтезом М-CSF [15].

Незрелые дендритные клетки человека моноцитарного происхождения спонтанно продуцируют TSP-1, уровни продукции которого значительно увеличиваются после обработки клеток PGE₂ и в меньшей степени – TGFβ. В ходе своего созревания дендритные клетки продолжают синтезировать этот белок, причем уровни продукции дополнительно увеличиваются под воздействием микробных стимулов и цитокинов (IL-10 и TGFβ) [16]. Усиление синтеза и продукции TSP-1 дендритными клетками человека моноцитарного происхождения было индуцировано с помощью АТФ. Внеклеточные нуклеотиды

высвобождаются из некротических или поврежденных клеток и рассматриваются многими авторами как «danger signal» благодаря своей способности регулировать функциональную активность иммунокомпетентных клеток [34].

Стимуляция Т-клеток с помощью анти-CD3-антител приводит к быстрому синтезу TSP-1, который высвобождается из клеток и находится в форме ассоциированной с клеточной поверхностью [30]. Спонтанная экспрессия мРНК TSP-1 была обнаружена у нейтрофилов человека сразу после их выделения из циркуляции [40]. Спонтанная экспрессия мРНК TSP-1 клетками пигментного эпителия была выявлена как сразу после выделения из сетчатки глаза, так и в процессе культивирования *in vitro*. После 24-часовой инкубации белок TSP-1 был обнаружен в супернатантах культур клеток [47].

Иммуностимулирующие эффекты

В месте повреждения кровеносных сосудов практически сразу аккумулируются тромбоциты, главной функцией которых является участие в свертывании крови, защищая организм таким образом от внезапных кровопотерь. TSP-1 является одним из основных компонентов α -гранул и высвобождается немедленно при активации тромбоцитов, после чего образует комплекс с фибриногеном на поверхности активированных тромбоцитов, необходимый для формирования тромбоцитарных агрегатов. Однако следует отметить, что у трансгенных животных, лишенных экспрессии TSP-1, — (TSP-1^{-/-}), не было выявлено никаких дефектов, связанных с системой свертывания крови, и наблюдалось нормальное образование тромбоцитарных агрегатов, индуцированных тромбином, что указывает на возможность компенсаторных изменений у этих животных. TSP-1 тромбоцитарного происхождения также может участвовать в выполнении других важных функций в местах повреждения кровеносных сосудов благодаря своей способности связывать белки крови, цитокины, факторы роста и специфические рецепторы на поверхности клеток [9, 11].

TSP-1, взаимодействуя с рецепторами на поверхности иммунокомпетентных клеток, контролирует адгезию и миграцию этих клеток, необходимые для реализации защитных функций [19]. При взаимодействии с $\alpha 4\beta 1$ -интегрином на поверхности Т-клеток TSP-1 стимулирует адгезию, хемотаксис и предотвращает связывание $\alpha 4\beta 1$ с VCAM-1, причем это зависит от выраженности активации клеток [31]. Кроме того, TSP-1 усиливает миграцию Т-клеток в трехмерном матриксе

коллагена 1 типа при взаимодействии с кальре-тикулином и CD47-рецепторами [29]. CD47 опосредует TSP-1-зависимую агрегацию и адгезию Т-клеток к фибробластоподобным синовиальным клеткам больных ревматоидным артритом [44], тем самым способствуя воспалительному процессу в ревматоидных суставах.

При взаимодействии с CD47 на поверхности эндотелиальных клеток TSP-1 усиливает экспрессию VCAM-1 и ICAM-1, что в свою очередь приводит к усилению адгезии моноцитов к эндотелиальным клеткам [36]. Однако при взаимодействии TSP-1 с активированными моноцито-подобными клетками линии U937 возможна как ингибция адгезии, опосредованная CD47-рецептором, так и CD36-зависимая стимуляция адгезии [45].

Образование комплекса между TSP-1 и рецепторами CD36 и $\alpha v\beta 3$ на поверхности макрофагов является необходимым для распознавания и фагоцитоза поврежденных гранулоцитов и лимфоцитов, подвергшихся как апоптозу, так и некрозу. TSP-1, таким образом, опосредует уничтожение мертвых клеток организма, которые могут быть источником аутоантигенов и способствовать развитию аутоиммунной патологии [10, 41].

Наиболее характерной особенностью TSP-1^{-/-} мышей является наличие эпителиальной гиперплазии, лейкоцитарной инфильтрации, острого и хронического воспаления в легких и воспалительных изменений в поджелудочной железе, выраженных в меньшей степени [9]. Эти изменения, обнаруженные у трансгенных животных, трудно связать с описанными свойствами TSP-1 *in vitro* усиливать адгезию нейтрофилов, хемотаксис нейтрофилов и моноцитов, а так же с участием TSP-1 в фагоцитозе подвергшихся апоптозу клеток.

Иммуносупрессивные эффекты

Взаимодействие TSP-1 со своими рецепторами имеет неоднозначные последствия для функционирования клеток иммунной системы. Наиболее хорошо изученным в настоящее время является CD47-рецептор, который экспрессируется практически на всех клетках гематопоэтического ряда. Лигирование CD47-рецептора на поверхности Т-клеток делает эти клетки чувствительными к Fas-опосредованному апоптозу [33], а на поверхности моноцитов и дендритных клеток приводит к быстрой каспаза-независимой гибели клеток [21], что указывает на способность TSP-1 корректировать с помощью апоптоза и элиминации клеток интенсивность иммунного ответа. Подтверждение этому было получено при индукции воспаления с помощью оксазолона у трансгенных животных. TSP1^{-/-} мыши, также

как и CD47^{-/-} мыши, демонстрировали пролонгированное воспаление, которое сопровождалось местным дефицитом апоптоза Т-клеток по сравнению с животными дикого типа [28].

Несмотря на то что лигирование CD47-рецептора фрагментом молекулы TSP-1 (4N1K-пептид) на поверхности моноцитов и дендритных клеток приводит к быстрой гибели клеток [21], небольшая часть моноцитов выживает и сохраняет способность дифференцироваться в дендритные клетки *in vitro* [22]. Полученные в таких условиях CD83⁺ дендритные клетки по многим своим характеристикам не отличаются от контрольных клеток. Однако способность продуцировать IL-12 и TNF α , ключевые иммунорегуляторные цитокины у клеток, обработанных ЛПС, в присутствии пептида 4N1K значительно снижена. При стимуляции моноцитов крови человека комбинацией факторов, включающих IFN γ , sCD40L, GM-CSF или IFN γ и ЛПС, иммобилизованный на пластике TSP-1 значительно и избирательно ингибирует продукцию IL-12, но не продукцию других цитокинов — TNF α , IL-1, IL-6 и GM-CSF. Аналогичные результаты были получены с использованием анти-CD47-антител или 4N1K-пептида [3].

Незрелые дендритные клетки на ранних этапах дифференцировки, индуцированной продуктами бактериального происхождения, более подвержены действию 4N1K-пептида или анти-CD47-антител, что выражается в сниженной продукции IL-12, TNF α , GM-CSF, IL-6, измененной экспрессии костимуляторных молекул и эндоцитарной активности [14]. Интересно, что в ходе своего созревания дендритные клетки моноцитарного происхождения способны сами продуцировать TSP-1. Эндогенный TSP-1 является негативным регулятором продукции цитокинов в течение ранней активации дендритных клеток. С помощью блокирующих антител было обнаружено, что сниженная продукция IL-12, TNF α и IL-10 этими клетками частично была опосредована взаимодействием эндогенного TSP-1 со своим рецептором CD47, а частично — с CD36 [16].

Способность TSP-1 при взаимодействии со своим рецептором CD47 на поверхности антигенпрезентирующих клеток (дендритных клеток и макрофагов) ингибировать продукцию IL-12 имеет особенное значение при дифференцировке CD4⁺ лимфоцитов в эффекторные клетки двух типов — Th1 или Th2, которые способствуют развитию клеточного или гуморального иммунных ответов соответственно. IL-12 является важным иммунорегуляторным фактором, который направляет дифференцировку CD4⁺ лимфоцитов в сторону Th1-клеток. Лигирование CD47-рецептора антителами или 4N1K-пептидом в культурах

мононуклеарных клеток крови человека, стимулированных *in vitro* факторами, благоприятствующими получению Th1- или Th2-клонов (ФГА, IL-12, анти-IL-4 Ат или ФГА, IL-4, анти-IL-12 Ат соответственно), приводит к ингибированию синтеза маркерных цитокинов в культурах Th1-клеток, но не в культурах Th2-клеток [4]. После дополнительной стимуляции этих культур с помощью анти-CD3-антител наблюдается CD47-зависимая ингибирование продукции IFN γ , IL-2, TNF α , LT α клетками Th1. Дополнительно было показано, что при стимуляции лимфоцитов человека *in vitro* важную роль играют экспрессия не только цитокинов, но и соответствующих рецепторов. В культурах мононуклеарных клеток, стимулированных ФГА, CD47 опосредует снижение продукции как самого цитокина IL-12, так и субъединицы его рецептора IL-12R β 2 [4].

Таким образом, TSP-1 является важным иммунорегуляторным фактором, который при взаимодействии со своим рецептором CD47 препятствует дифференцировке Th1-клеток и, как следствие, развитию клеточного иммунного ответа. Более того, благодаря своей способности активировать TGF β , который является цитокином, направляющим дифференцировку CD4⁺ лимфоцитов в сторону Th2-клеток, TSP-1 может благоприятствовать развитию гуморального иммунного ответа.

Взаимодействие анти-CD47-антител или специфического пептида молекулы TSP-1 с рецептором CD47 на поверхности «наивных» Т-лимфоцитов человека или Т-клеток памяти CD4⁺CD25⁻ приводит к образованию регуляторных CD4⁺ Foxp3 Т-регуляторных клеток [20]. Полученные путем такого взаимодействия Т-регуляторные клетки демонстрируют активированный фенотип и повышенные уровни экспрессии Foxp3, а также обладают способностью контактно ингибировать пролиферацию и продукцию цитокинов аутологичными Th0-, Th1- и Th2- клетками. Эти данные указывают на возможное участие TSP-1 в образовании периферических регуляторных Т-клеток и, таким образом, содействовать контролю над развитием воспалительной реакции и предотвращению дополнительного повреждения собственными и чужеродными антигенами.

Немногочисленные данные литературы указывают на то, что взаимодействие нативного TSP-1 с другими рецепторами, отличными от CD47, на поверхности иммунокомпетентных клеток также может приводить к частичной ингибированию их функциональной активности. Так, например, было показано, что иммобилизованный TSP-1 усиливает продукцию IL-6 и ингибирует

продукцию IL-10 клетками моноцитарной линии U937, индуцированную ФМА или ЛПС. С помощью рекомбинантных фрагментов молекулы TSP-1 или ингибирующих антител было показано, что усиление продукции IL-6 опосредовано CD36-рецептором на поверхности клеток, а снижение уровня IL-10, напротив, было вызвано действием TGF β 1 [45]. Растворимая форма молекулы TSP-1, добавленная в смешанную культуру клеток, в присутствии ФГА ингибирует пролиферацию Т-клеток и индуцирует экспрессию IL-10 антиген-презентирующими клетками. Полученные эффекты были ингибированы в присутствии гепарина или RGDS-пептида, что указывает на возможную роль гепарансульфат протеогликанового рецептора [7].

Особенное значение для функционирования иммунной системы имеет способность TSP-1 активировать латентную форму TGF β , фактора, обладающего широким спектром действия в отношении иммунокомпетентных клеток [13, 9]. TGF β выступает преимущественно как супрессорный фактор, сдерживающий, в частности, развитие аутоиммунных процессов. TSP-1 играет важную роль в обеспечении иммунологической неотвечаемости в так называемых иммунологически привилегированных зонах, что выражается в сдерживании воспалительной реакции и защите клеток, необходимых для зрительного восприятия, от повреждения внутри глаза. [43]. Во многом это достигается благодаря способности TSP-1 активировать TGF β . Оба эти фактора синтезируются эпителиальными пигментными клетками сетчатки глаза, которые не только участвуют в метаболизме фоторецепторов и синтезе пигментов, но также осуществляют иммунологический барьер в органе зрения. Частично это опосредовано взаимодействием TSP-1 со своим рецептором CD36 на поверхности антиген-презентирующих клеток местного происхождения с последующим ингибированием продукции IL-12 [35, 42, 47].

Было показано, что TSP-1 ингибирует раннюю пролиферацию CD56⁺ естественных киллеров и, наоборот, стимулирует позднюю экспансию этих клеток [37]. Эти эффекты были опосредованы способностью TSP-1 активировать TGF β , который синтезируется естественными киллерами, активированными IL-2, и является аутокринным механизмом регуляции пролиферации.

Таким образом, TSP-1 является многофункциональным иммунорегуляторным белком, который в некоторых ситуациях способствует развитию воспалительной реакции, а в некоторых, наоборот, сдерживает иммунный ответ. Очевидно, что направленность эффекта этой молекулы во многом определяется репертуаром рецепторов на поверхности клеток и микроокружением.

Заключение

Изучению структуры и функций природных ингибиторов ангиогенеза уделяется особенное внимание, прежде всего, благодаря потенциальной возможности использования этих молекул при лечении опухолевого роста, метастазирования, ревматоидных артритов и неоваскуляризации глаза. Эндогенные ингибиторы ангиогенеза принято разделять на две группы. В первую входят фрагменты молекул, такие как ангиостатин, эндостатин, тумстатин и другие, образованные путем ограниченного протеолиза из неактивных протеинов, в другую — нативные молекулы семейства тромбоспондинов. Ограниченная биодоступность тромбоспондинов делает их плохими кандидатами для системного использования в качестве терапевтических агентов. Однако использование фрагментов этих матричных протеинов и особенно использование синтезированных коротких пептидов, обладающих ангиостатической активностью, представляется достаточно перспективным. В настоящее время требуется разработать систему защиты этих пептидов от протеолиза, деградации и выведения из циркуляции с целью усовершенствования их терапевтических свойств [5, 23, 39, 43].

При рассмотрении терапевтического использования такого сложно организованного и многофункционального белка, как TSP-1, необходимо учитывать возможность побочного действия со стороны иммунной системы. В настоящем обзоре впервые была предпринята попытка суммировать и обсудить относительно малочисленные и противоречивые литературные данные, которые свидетельствуют об иммунорегуляторной роли TSP-1.

Как видно из представленного материала, TSP-1 обладает широким спектром возможностей оказывать как иммуностимулирующее, так и иммуносупрессирующее действие в зависимости от активационного статуса иммунокомпетентных клеток и микроокружения. Кроме того, следует отметить, что клетки иммунной системы, в свою очередь, являются активными участниками регуляции ангиогенеза благодаря своей способности секретировать как про-, так и антиангиогенные факторы. Несмотря на то, что связь между воспалением и развитием опухоли в целом была обнаружена достаточно давно [6, 32], изучение взаимодействия между ангиогенезом и иммунным ответом является до сих пор актуальным и недостаточно изученным.

Работа была поддержана Госконтрактом Роснауки № 02.512.11.2101 и грантами РФФИ № 08-04-01784а и 06-04-48250а.

Список литературы

1. Adams J.C. Functions of the conserved thrombospondin carboxy-terminal cassette in cell-extracellular matrix interactions and signaling // *Int. J. Biochem. Cell Biol.* – 2004. – Vol. 36. – P. 1102-1114.
2. Adams J.C., Lawler J. The thrombospondins // *Int. J. Biochem. Cell Biol.* – 2004. – Vol. 36. – P. 961-968.
3. Armant M., Avic M.N., Hermann P., Rubio M., Kiniwa M., Delespesse G., Sarfati M. CD47 ligation selectively downregulates human interleukin 12 production // *J. Exp. Med.* – 1999. – Vol. 190, N 8. – P. 1175-1182.
4. Avic M.N., Rubio M., Sergerie M., Delespesse G., Sarfati M. CD47 ligation selectively inhibits the development of human naïve T cells into Th1 effectors // *J. Immunol.* – 2000. – Vol. 165, N 8. – P. 4624-4631.
5. Bainbridge J., Sivakumar B., Paleolog E. Angiogenesis as a therapeutic target in arthritis: lessons from oncology // *Cur. Pharm. Design.* – 2006. – Vol. 12. – P. 2631-2644.
6. Balkwill F., Mantovani A. Inflammation and cancer: back to Virchow? // *The Lancet.* – 2001. – Vol. 357. – P. 539-545.
7. Beppu R., Nakamura K., Miyajima-Uchida H., Kuroki M., Khare P.D., Yamauchi Y., Ymashita Y., Shirakusa T., Kuroki M. Soluble thrombospondin-1 suppresses T cell proliferation and enhances IL-10 secretion by antigen presenting cells stimulated with phytohemagglutinin // *Immunol. Invest.* – 2001. – Vol. 30, N 2. – P. 143-156.
8. Bocci G., Francia G., Man S., Lawler J., Kerbel R.S. Thrombospondin 1, a mediator of the antiangiogenic effects of low-dose metronomic chemotherapy // *PNAS.* – 2003. – Vol. 100, N 22. – P. 12917-12922.
9. Bornstein P. Thrombospondins as matricellular modulators of cell function // *J. Clin. Invest.* – 2001. – Vol. 107, N 8. – P. 929-934.
10. Böttcher A., Gaip U.S., Färnrohr B.G., Herrmann M., Girkontaite I., Kalden J.R., Voll R.E. Involvement of phosphatidylserine, $\alpha\beta 3$, CB14, CB36, and complement C1q in the phagocytosis of primary necrotic lymphocytes by macrophages // *Arthritis & Rheumatism.* – 2006. – Vol. 54, N 3. – P. 927-938.
11. Browder T., Folkman J., Pirie-Shepherd S. The Hemostatic System as a Regulator of Angiogenesis // *J. Biol. Chem.* – 2000. – Vol. 275, N 3. – P. 1521-1524.
12. Brown E.J., Frazier W.A. Integrin-associated protein (CD47) and its ligands // *Trends. Cell Biol.* – 2001. – Vol. 11, N. 3. – P. 130-135.
13. Crawford S.E., Stellmach V., Murphy-Ullrich J.E., Ribeiro S.M., Lawler J., Hynes R.O., Boivin G.P., Bouck N. Thrombospondin-1 is a major activator of TGF- $\beta 1$ *in vivo* // *Cell.* – 1998. – Vol. 93. – P. 1159-1170.
14. Demeure C.E., Tanaka H., Mateo V., Rubio M., Delespesse G., Sarfati M. CD47 engagement inhibits cytokine production and maturation of human dendritic cells // *J. Immunol.* – 2000. – Vol. 164, N 4. – P. 2193-2199.
15. De Nichilo M.O., Burns G.F. Macrophage colony-stimulating factor induces thrombospondin 1 production by cultured human macrophages // *J. Cell. Physiol.* – 1995. – Vol. 164, N 2. – P. 223-231.
16. Doyen V., Rubio N., Braun D., Nakajima T., Abe J., Saito H., Delespesse D., Sarfati M. Thrombospondin 1 is an autocrine negative regulator of human dendritic cell activation // *J. Exp. Med.* – 2003. – Vol. 8. – P. 1277-1283.
17. Elzie C.A., Murphy-Ullrich J.E. The N-terminus of thrombospondin: the domain stands apart // *Int. J. Biochem. Cell Biol.* – 2004. – Vol. 36. – P. 1090-1101.
18. Febbraio M., Silverstein R.L. CD36: implication in cardiovascular disease // *Int. J. Biochem. Cell Biol.* – 2007. – Vol. 39, N. 11. – P. 2012-2030.
19. Forslöv A., Liu Z., Sundqvist K.-G. Receptor communication within the lymphocyte plasma membrane: a role for the thrombospondin family of matricellular proteins // *Cell. Mol. Life. Sci.* – 2007. – Vol. 64. – P. 66-76.
20. Grimbirt P., Bouguermouh S., Baba N., Nakajima T., Allakhverdi Z., Braun D., Saito H., Rubio M., Delespesse G., Sarfati M. Thrombospondin/CD47 interaction: a pathway to generate regulatory T cells from human CD4⁺ CD25⁻ T cells in response to inflammation // *J. Immunol.* – 2006. – Vol. 177, N 6. – P. 3534-3541.
21. Johanson U., Higginbottom K., Londei M. CD47 Ligation induces a rapid caspase-independent apoptosis-like cell death in human monocytes and dendritic cells // *Scand. J. of Immunol.* – 2004. – Vol. 59. – P. 40-49.
22. Johansson U., Londei M. Ligation of CD47 during monocyte differentiation into dendritic cells results in reduced capacity for interleukin-12 production // *Scand. J. Immunol.* – 2004. – Vol. 59, N 1. – P. 50-57.
23. Hagedorn M., Bikfalvi A. Target molecules for anti-angiogenic therapy: from basic research to clinical trials // *Critical Rev. Oncol./Hematol.* – 2000. – Vol. 34. – P. 89-110.
24. Iruela-Arispe M.L., Luque A., Lee N. Thrombospondin modules and angiogenesis // *Int. J. Biochem. Cell Biol.* – 2004. – Vol. 36. – P. 1070-1078.
25. Isenberg J.S., Frazier W.A., Roberts D.D. Thrombospondin-1: a physiological regulator of nitric oxide signaling // *Cell. Mol. Life Sci.* – 2008. – Vol. 65. – P. 728-742.

26. Kim S.A., Kang J.H., Cho I., Bac S.W., Hong K.J. Cell-type specific regulation of thrombospondin-1 expression and its promoter activity by regulatory agents // *Exp. Mol. Med.* — 2001. — Vol. 33, N 3. — P. 117-123.
27. Kuznetsova S.A., Roberts D.D. Functional regulation of T lymphocytes by modulatory extracellular matrix proteins // *Int. J. Biochem. Cell Biol.* — 2004. — Vol. 36. — P. 1126-1134.
28. Lamy L., Foussat A., Brown E.J., Bornstain P., Ticchioni M., Bernard A. Interactions between CD47 and thrombospondin reduce inflammation // *J. Immunol.* — 2007. — Vol. 178, N 9. — P. 5930-5939.
29. Li S.S., Forsl w A., Sundqvist K.-G. Autocrine Regulation of T cell Motility by Calreticulin-Thrombospondin-1 Interaction // *J. Immunol.* — 2005. — Vol. 175. — P. 654-661.
30. Li S.S., Liu Z., Uzunel M., Sundqvist K.G. Endogenous thrombospondin-1 is a cell-surface ligand for regulation of integrin-dependent T-lymphocyte adhesion // *Blood.* — 2006. — Vol. 108, N 9. — P. 3112-3120.
31. Li Z., Calzada M.J., Sipes J.M., Cashel J.A., Krutzsch H.C., Annis D.S., Mosher D.F., Roberts D.D. Interactions of thrombospondins with $\alpha 4 \beta 1$ integrin and CD47 differentially modulate T cell behavior // *J. Cell. Biol.* — 2002. — Vol. 157, N 3. — P. 509-519.
32. Lu H., Ouyang W., Huang C. Inflammation, a key event in cancer development // *Mol. Cancer Res.* — 2006. — Vol. 4, N 4. — P. 221-233.
33. Manna P.P., Dimitry J., Oldenborg P., Frazier W.A. CD47 Augments Fas/CD95-mediated Apoptosis // *J. Biol. Chem.* — 2005. — Vol. 280, N 33. — P. 29637-29644.
34. Marteau F., Suares Gonzales N., Communi D., Goldman M., Boeynaems J.M., Communi D. Thrombospondin-1 and indoleamine 2,3-dioxygenase are major targets of extracellular ATP in human dendritic cells // *Blood.* — 2005. — Vol. 106. — P. 3860-3866.
35. Masli S., Turpie B., Streilein J.W. Thrombospondin orchestrates the tolerance-promoting properties of TGF β -treated antigen-presenting cells // *International Immunology.* — 2006. — Vol. 18, N 5. — P. 689-699.
36. Narizhneva N.V., Razorenova O.V., Podrez E.A., Chen J., Chandrasekharan U.M., DiCorleto P.E., Plow E.F., Topol E.J., Byzova T.V. Thrombospondin-1 up-regulates expression of cell adhesion molecules and promotes monocyte binding to endothelium // *FASEB J.* — 2005. — Vol. 19, N 9. — P. 1158-1160.
37. Pierson B.A., Gupta K., Hu W.S., Miller J.S. Human natural killer cell expansion is regulated by thrombospondin-mediated activation of transforming growth factor-beta 1 and independent accessory cell-derived contact and soluble factors // *Blood.* — 1996. — Vol. 87, N 1. — P. 180-189.
38. Roberts D.D. regulation of tumor growth and metastasis by thrombospondin-1 // *FASEB J.* — 1996. — Vol. 10. — P. 1183-1191.
39. Roberts D.D. Thrombospondins: from structure to therapeutics // *Cell. Mol. Life Sci.* — 2008. — Vol. 65. — P. 669-671.
40. Schrufer R., Sulyok S., Schymeinsky J., Peters T., Scharffetter-Kochanek K., Walzog B. The proangiogenic capacity of polymorphonuclear neutrophils delineated by microarray technique and by measurement of neovascularization in wounded skin of CD18-deficient mice // *J. Vasc. Res.* — 2006. — Vol. 43, N 1. — P. 1-11.
41. Stern M., Savill J., Haslett C. Human monocyte-derived macrophage phagocytosis of senescent eosinophils undergoing apoptosis. Mediation by $\alpha v \beta 3$ / CD36 / thrombospondin recognition mechanism and lack of phlogistic response // *Am. J. Pathol.* — 1996. — Vol. 149, N 3. — P. 911-921.
42. Streilein J.W. Ocular immune privilege: the eye takes a dim practical view of immunity and inflammation // *J. Leukoc. Biol.* — 2003. — Vol. 74. — P. 179-185.
43. Vailh  B., Feige J.-J. Thrombospondins as anti-angiogenic therapeutic agents // *Cur. Pharm. Design.* — 2003. — Vol. 9. — P. 583-588.
44. Vallejo A.N., Yang H., Klimiuk P.A., Weyand C.M., Goronzy J.J. Synovocyte-mediated expansion of inflammatory T cells in кругъфещив synovitis is dependent on CD47-thrombospondin 1 interaction // *J. Immunol.* — 2003. — Vol. 171, N 4. — P. 1732-1740.
45. Yamauchi Y., Kuroki M., Imakiire T., Abe H., Uchida H., Beppu R., Ymashita Y., Kuroki M., Shirakusa T. Thrombospondin-1 differentially regulates release of IL-6 and IL-10 by human monocytic cell line U937 // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* — 2002. — Vol. 290, N 5. — P. 1551-1557.
46. Yesner L.M., Huh H.Y., Pearce S.F., Silverstein R.L. Regulation of monocyte CD36 and thrombospondin-1 expression by soluble mediators // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* — 1996. — Vol. 16, N 8. — P. 1019-1025.
47. Zamiri P., Masli S., Kitaichi N., Taylor A., Streilein J.W. Thrombospondin plays a vital role in the immune privilege of the eye // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* — 2005. — Vol. 46. — P. 908-919.

поступила в редакцию 10.05.2008
принята к печати 15.09.2008